

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisati n für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
17. Mai 2001 (17.05.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/35150 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: G02B 21/00,  
G01N 15/14, G02B 21/06, 21/32, C12M 1/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/10808

(22) Internationales Anmeldedatum:  
2. November 2000 (02.11.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 54 933.8 10. November 1999 (10.11.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): CARL ZEISS JENA GMBH [DE/DE]; Carl-Zeiss-  
Promenade 10, 07745 Jena (DE).

Ronald [DE/DE]; Ibrahimstr. 37, 07745 Jena (DE).  
HOFFMANN, Anja [DE/DE]; Kronfeldstr. 21,  
07745 Jena (DE). GREULICH, Karl, Otto [DE/DE];  
Max-Steenbeck-Str. 26, 07745 Jena (DE). MONAJEM-  
BASHI, Shamci [IR/DE]; Fritz-Frey-Strasse 2, 69121  
Heidelberg (DE). UHL, Volker [DE/AT]; Erlaufstr. 37/1,  
A-2344 Maria Enzersdorf (AT).

(74) Gemeinsamer Vertreter: CARL ZEISS JENA GMBH;  
Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): JP, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,  
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WENDENBURG,

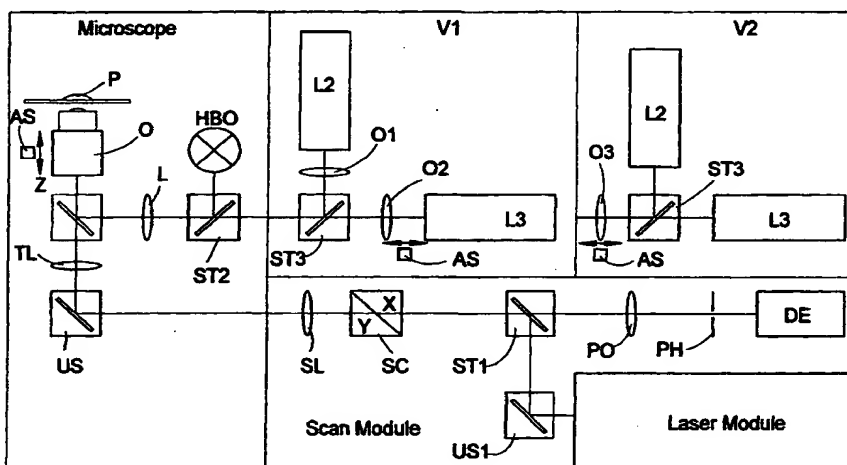
Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: SYSTEM FOR INTRODUCING OPTICAL TWEEZERS AND/OR A TREATMENT BEAM INTO A MICROSCOPE

(54) Bezeichnung: ANORDNUNG ZUR EINKOPPLUNG EINER OPTISCHEN PINZETTE UND/ODER EINES BEARBEI-  
TUNGSSTRAHLES IN EIN MIKROSKOP



(57) Abstract: The invention relates to a system for introducing at least one beam (L3) of optical tweezers for capturing particles and/or a treatment beam (L2) into the beam path of a microscope, preferably in a laser scanning microscope (O, SC). The inventive system is provided with means (AS) for freely adjusting the position of the beam focus of the optical tweezers and/or the treatment beam so as to change the focal position of the microscope.

(57) Zusammenfassung: Anordnung zur Einkopplung mindestens eines Strahles (L3) einer optischen Pinzette zum Einfangen von Teilchen und/oder eines Bearbeitungsstrahles (L2) in einen mikroskopischen Strahlengang, vorzugsweise in einem Laser-Scanning-Mikroskop (O, SC), wobei Mittel (AS) zur frei einstellbaren Veränderung der Lage des Strahlfokus der optischen Pinzette und/oder des Bearbeitungsstrahles bezüglich der Veränderung der Fokusposition des Mikroskopes vorgesehen sind.

WO 01/35150 A1



*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

**Titel:**

Anordnung zur Einkopplung einer optischen Pinzette und/oder eines Bearbeitungsstrahles in ein Mikroskop

Die Erfindung erlaubt die räumliche Fixierung von mikroskopischen Objekten im Laser Scanning Mikroskop, auch während Verschiebung der Objektebene, zum Beispiel bei der Bildaufnahme. Somit können auch sich bewegende Objekte scharf abgebildet werden.

**Hintergrund der Erfindung**

Für eine Reihe von biologischen Arbeitstechniken hat sich die optische Pinzette als interessantes Arbeitswerkzeug erwiesen. Die Kombination von Laser Scanning Mikroskopen mit Lasermikrotechniken läßt eine Erweiterung der experimentellen Möglichkeiten erwarten. LSM-Aufnahmen sich bewogender Objekte, vor allem im Inneren ungeöffneter Zellen, ergeben oft nicht zufriedenstellende Bilder, da sich viele subzelluläre Strukturen während der Scanzeit bewegen. Die optische Pinzette läßt sich hier ideal zur schonenden (Vital-) Fixierung einsetzen. Weiterhin ist mit der optischen Pinzette eine räumlich definierte Verschiebung von fixierten Objekten möglich. Anwendungsbeispiele für den Einsatz einer kompensierten optischen Pinzette im Laser Scanning Mikroskop sind die Untersuchung von Organellen, zum Beispiel Chloroplasten, oder das Festhalten von durch Motorproteine bewegten Objekten. Im letzten Fall sind unter geeigneten Bedingungen sogar Kraftmessungen möglich. Grundsätzlich können bewegliche Objekte, beispielsweise Partikel in Suspension oder bestimmte Organellen, ohne Fixierung durch eine kompensierte optische Pinzette, nicht scharf abgebildet werden.

Eine durch das Objektiv eingekoppelte optische Pinzette hat ihren Fokus in der Objektebene. Wird durch den dreidimensionalen Bildaufnahmevorgang (Scannen) die Objektebene parallel verschoben, so verschiebt sich der Fokus der optischen Pinzette mit. Dies führt dazu, daß Objekte, die durch die optische Pinzette gehalten werden, ebenfalls verschoben werden. Dies ist jedoch während der Bildaufnahme unerwünscht. Deshalb muß die

Verschiebung der Objektebene durch eine geeignete Einrichtung im Strahlengang der optischen Pinzette kompensiert werden.

Die Erfindung ist immer dann bei Laser Scanning Mikroskopen verschiedener Hersteller notwendig, wenn die optische Pinzette durch das Objektiv eingekoppelt wird und die dritte Dimension bei der Bildaufnahme durch Verschieben des Objektivs oder des Objektstischs oder einer anderen Methode, die den Fokus der optischen Pinzette relativ zur Probe verschiebt, erschlossen wird.

Die Einkopplung der optischen Pinzette in ein inverses Mikroskop über ein zweites hochaperturiges Objektiv, das die optische Pinzette von der anderen Seite der Probe eingekoppelt (K. Visscher, G. J. Brakenhoff: Single Beam Optical Trapping Integrated in a Confocal Microscope for Biological Applications. Cytometry 12:486-491 (1991)), macht eine kompensierte Bewegung der optischen Pinzette zwar überflüssig, dafür muß sich die Probe aber zwischen zwei Deckgläsern befinden und darf eine gewisse Dicke nicht überschreiten. Weiterhin schränkt diese Art der Einkopplung konventionelle mikroskopische Anwendungen ein, da das Objektiv für die optische Pinzette an der Stelle plaziert ist, an der sich im inversen Mikroskop der Durchlichtstrahlengang befindet. Darüber hinaus ist die Probe von oben nicht mehr uneingeschränkt frei zugänglich, was zum Beispiel Anwendungen mit Mikroinjektions- oder Temperiereinrichtungen sehr erschwert, wenn nicht sogar unmöglich macht. Letzteres gilt auch für Aufbauten, bei denen das optische Fixieren von Partikeln durch mit Mikrolinsen versehenen Glasfasern erfolgt, die direkt auf die Probe geführt werden. Hinzu kommen Probleme mit der Sterilität der Probe, da die Glasfasern in dickere Flüssigkeitsschichten eintauchen müssen, wenn Partikel an der Unterseite der Flüssigkeit fixiert werden sollen.

### Beschreibung

Abbildung 1 zeigt eine schematische Darstellung der Wirkung der Erfindung, Abbildung 2 die Anwendung in einem Mikroskop wie einem Laser-Scanning - Mikroskop.

Im für die Erfindung relevanten Aufbau wird die optische Pinzette durch das Mikroskopobjektiv in die Objektebene geführt. Sie ist so justiert, daß sich

in der Objektebene befindliche mikroskopische Partikel gehalten werden, das heißt, der Fokus der optischen Pinzette liegt in der Objektebene. Bei der dreidimensionalen Bildaufnahme durch ein Laser Scanning Mikroskop muß die Objektebene jedoch parallel verschoben werden, um die aus der Objektebene heraus ragende dritte Dimension zu erschließen. Dadurch verschiebt sich auch der Fokus der optischen Pinzette, was zu einer unerwünschten Verschiebung der fixierten Partikel führt. Ohne Kompensation dieser Verschiebung können dreidimensionale Objekte, die durch die optische Pinzette gehalten werden, nicht dreidimensional aufgelöst aufgenommen werden. Eine Kompensation der Verschiebung der Objektebene, im Folgenden z-Kompensation genannt, besteht aus variablen optischen Elementen, die in der Strahlengang der optischen Pinzette eingefügt werden und die die Bewegung der Objektebene kompensieren. Die z-Kompensation bewirkt eine zur Bewegung der Objektebene simultan ablaufende kompensierende Bewegung der optischen Pinzette, so daß die Position des fixierten Objekts in der Probe erhalten bleibt.

Realisiert wird die Kompensation über ein elektromechanisch verschiebbares optisches Element im Einkoppelsystem der optischen Pinzette. Die exakte Position der Objektebene wird der Steuerelektronik des Laser Scanning Mikroskops während des Bildaufnahmeverganges entnommen. Entsprechend wird das verschiebbare optische Element im Einkoppelsystem der optischen Pinzette rechnergesteuert verfahren, so daß die Position des fixierten Objekts relativ zur Probe erhalten bleibt. Es ist prinzipiell nicht notwendig, die Position der Objektebene der Steuerelektronik des Laser Scanning Mikroskops zu entnehmen, da die Position der relevanten optischen Elemente auch elektromechanisch oder optisch detektiert werden kann. Dies ist allerdings mit einem größeren Aufwand verbunden.

Wenn der Strahlengang für die optische Pinzette vom Laser zum Mikroskop über Lichtleiter erfolgt, kann die z-Kompensation mit der mikroskopseitigen Halterung des Lichtleiters kombiniert werden. Es entsteht dann eine kompakte Einheit mit einem Minimum an optischen Elementen.

Es besteht auch die Möglichkeit, die z-Kompensation manuell vorzunehmen. Dazu wird das zu untersuchende Objekt in verschiedenen x-y-Schnitten abgetastet. Zwischen den Schnitten wird die Objektebene durch das Laser

Scanning Mikroskop verschoben. Vor der Aufnahme des nächsten Schnitts wird die Position des Fokus der optischen Pinzette durch manuelles Verschieben des im Strahlengang der optischen Pinzette befindlichen zusätzlichen optischen Elements wieder an den Ausgangspunkt gebracht. Dieser Vorgang wird für jeden x-y-Schnitt wiederholt. Durch die oben beschriebene rechnergesteuerte elektromechanische Verschiebung des Kompensationselements wird jedoch während der dreidimensionalen Bildaufnahme Zeit gespart, was bei kurzlebigen Präparaten von entscheidender Bedeutung sein kann. Es soll jedoch die z-Kompensation an sich patentiert werden, unabhängig von ihrer technischen Ausführung.

Sollen mehrere in Flüssigkeit bewegliche Objekte untersucht werden, müssen diese alle mit einer optischen Pinzette fixiert werden. Die hier beschriebene z-Kompensation erlaubt auch das Einkoppeln einer sogenannten "Multitrap", einer optischen Pinzette, bei der ein oder mehrere Laserstrahlen zur Fixierung auf mehrere Objekte gelenkt werden. Dies kann auch dadurch geschehen, daß mit Hilfe eines Scannerspiegels ein Strahl abwechselnd in hoher Frequenz auf mehrere Objekte so gelenkt wird, daß diese fixiert bleiben, auch wenn der Laserstrahl nicht permanent das entsprechende Objekt bestrahlt.

Auf gleiche Weise wie die optische Pinzette kann auch ein Lasermikrostrahl kompensiert eingekoppelt werden (Ein Lasermikrostrahl ist ein kurz gepulster Laserstrahl, der in ein Mikroskop eingekoppelt wird, um Mikromaterialbearbeitung durchzuführen). Somit kann für die Einkopplung des Lasermikrostrahls die gleiche Optik wie für die optische Pinzette verwendet werden. Ein z-kompensierter Lasermikrostrahl erlaubt präzise Materialbearbeitung während der Bildaufnahme, zum Beispiel um die Licht-Materie-Wechselwirkung im Detail zu untersuchen.

Die Abbildung 2 zeigt einen mikroskopischen Strahlengang mit einer Probe P, einem Objektiv O und einer Tubuslinse TL.

Über einen Umlenkspiegel US wird über eine Scanlinse SL und einen x/y Scanner SC sowie einen Umlenkspiegel US1 und einen dichroitischen Strahlteiler ST1 ein Laserstrahl L1 eingekoppelt, der die Probe P in x/y Richtung abscannt.

Der Strahlfokus in der Probe wird hierbei durch Verschieben des Objektives O in Z-Richtung über eine Ansteuereinheit AS höhenverstellt, so daß die Probe an unterschiedlichen Z-Positionen abgescannt werden kann.

Die von der Probe kommende Strahlung gelangt auf umgekehrten Weg über den Stahlteiler ST1 auf eine Detektoreinheit, bestehend aus Pinholeoptik PO, Pinhole PH sowie Detektor DE.

Weiterhin ist über einen weiteren Stahlteiler ST2 und eine Linse L eine HBO - Beleuchtung einkoppelbar.

Über den Strahlteiler ST2 und einen weiteren Strahlteiler ST3 werden weiterhin in einer Variante V1 über entsprechende Korrektionsoptiken O1,O2 ein gepulster Laserstrahl L2 zum optischen Schneiden und ein weiterer Laserstrahl L3 als optische Pinzette ( Optical Tweezer) eingekoppelt.

Beispielsweise kann es sich zur Lichteinkopplung um eine indirekte Einkopplung über Lichtleiter handeln, denen Kollimationsoptiken nachgeordnet sind.

Durch Verschieben der Optiken oder der Lichtleiterenden entlang der optischen Achse ändert sich die Strahlfokusposition des jeweiligen Lasers in der Probe P. Die Korrektionsoptiken O1,O2 sind hierbei in der Variante V1 entlang der optischen Achse über die Ansteuereinheit AS verschiebbar angeordnet, wobei die Ansteuereinheit AS diese Verschiebebewegung mit der Verschiebebewegung des Objektives abstimmen kann.

Dies erfolgt durch eine zur Verschiebung des Objektives über errechnete oder vorher abgespeicherte Korrekturwerte abgestimmte gegenläufige Bewegung mindestens des Laserstrahles L3.

Zum einen wird erreicht, daß die Lage des Fokus innerhalb Probe in Z-Richtung definiert verändert werden kann.

Zum anderen kann ein mit der optischen Pinzette festgehaltenes Objekt vorteilhaft bei Verschiebungen des Objektivs in Z-Richtung immer an derselben Stelle in der Probe verbleiben.

Neben der Bewegung der Optik O2 für den Laser L3 kann auch die Optik O1 für den Schneidelaser L2 entsprechend bewegt werden und dadurch die Lage des Schnittes beliebig und auch von der Lage des Lasers L3 entkoppelt gewählt werden.

In der anschließend dargestellten Variante V2 ist für die Laser L2, L3 eine gemeinsame verschiebliche Korrekturoptik O3 vorgesehen.

Auch hier kann durch zusätzlich in den Strahlengang des Lasers L2 einsetzbare unterschiedliche Optiken eine Entkopplung der Bewegung von L2 und L3 erreicht werden.

Weiterhin ist hier die Verwendung eines sogenannten Multibeam-Tweezers, d.h. einer Pinzette, bei der ein oder mehrere Laserstrahlen zum Festhalten von mehreren Objekten verwendet werden können, möglich.

Dies kann dadurch geschehen, daß der Laserstrahl L3 mit Hilfe eines Scannerspiegels in hoher Frequenz auf mehrere Objekte so gelenkt wird, daß diese gleichzeitig festgehalten werden können ( C.Hoyer, S.Monajembashi, K.O. Greulich: Laser Manipulation and UV induced single molecule reactions of individual DNA molecules; Journal of Biotechnology 52 (1996), 65-73)

#### Anwendungsbeispiele

Organellen können häufig nicht scharf abgebildet werden, da sie sich während der Bildaufnahme bewegen. Nur durch den Einsatz einer kompensierten optischen Pinzette, die die Fixierung der Organellen während der Bildaufnahme ermöglicht, sind scharfe, dreidimensionale Abbildungen möglich. So können Zellorganellen wie zum Beispiel Chloroplasten oder Mitochondrien in lebenden Zellen fixiert und scharf dreidimensional abgebildet werden. Organellen, die sich normalerweise nicht bewegen, wie sekretorische Vesikel oder der Graviperzeptionsapparat, können mit der optischen Pinzette aus der Ursprungsposition ausgelenkt werden und die Reaktion der Zelle darauf (Reorganisation) dreidimensional untersucht werden. Durch Auslenkung aus der Ruhelage kann auch die Cytoskelettdynamik in lebenden Zellen untersucht werden.

Sphäroiden können als in-vivo Modell für Gewebe mit einer z-kompensierten optischen Pinzette im Laser Scanning Mikroskop dreidimensional manipuliert und untersucht werden.

Mit Hilfe von Vitalfarbstoffen können lebende Zellen so angefärbt werden, daß sie mit Fluoreszenzmikroskopie abgebildet werden können. Mit einer in ein konfokales Laser Scanning Mikroskop integrierten z-kompensierten optischen Pinzette sind so Untersuchungen zur Chromosomenorganisation in



lebenden Zellen möglich. Ebenfalls sind mit dieser Anordnung dreidimensionale Abbildungen und Untersuchungen zum Teilungsprozeß an nichtadherenten Zellen möglich.

**Patentansprüche**

1.

Anordnung zur Einkopplung mindestens eines Strahles einer optischen Pinzette zum Einfangen von Teilchen und/ oder eines Bearbeitungsstrahles in einen mikroskopischen Strahlengang, vorzugsweise in einem Laser-Scanning- Mikroskop, wobei Mittel zur frei einstellbaren Veränderung der Lage des Strahlfokus der optischen Pinzette und / oder des Bearbeitungsstrahles bezüglich der Veränderung der Fokusposition des Mikroskopes vorgesehen sind. sind.

2.

Anordnung nach Anspruch 1, wobei zur Veränderung der Lage des Strahlfokus eine separate bewegliche Optik vorgesehen ist.

3.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei Strahlaustritt und / oder Beleuchtungsoptik der Optischen Pinzette und/ oder des Bearbeitungsstrahles in Richtung der optischen Achse verschiebbar sind.

4.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche , wobei die Veränderung ansteuerbar ist und eine Bewegung der optischen Pinzette und/ oder des Bearbeitungsstrahles in Gegenrichtung zur Bewegung des Mikroskopobjektives bewirkt.

5.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, mit einer definierten Ansteuerung der Verschiebung über vorgespeicherte oder errechnete Werte in Abhängigkeit von der Fokusposition.

6.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei mehrere optische Pinzetten und/ oder Bearbeitungsstrahlen vorgesehen , die einzeln und/ oder gemeinsam bezüglich ihrer Fokusslage einstellbar sind

1/2

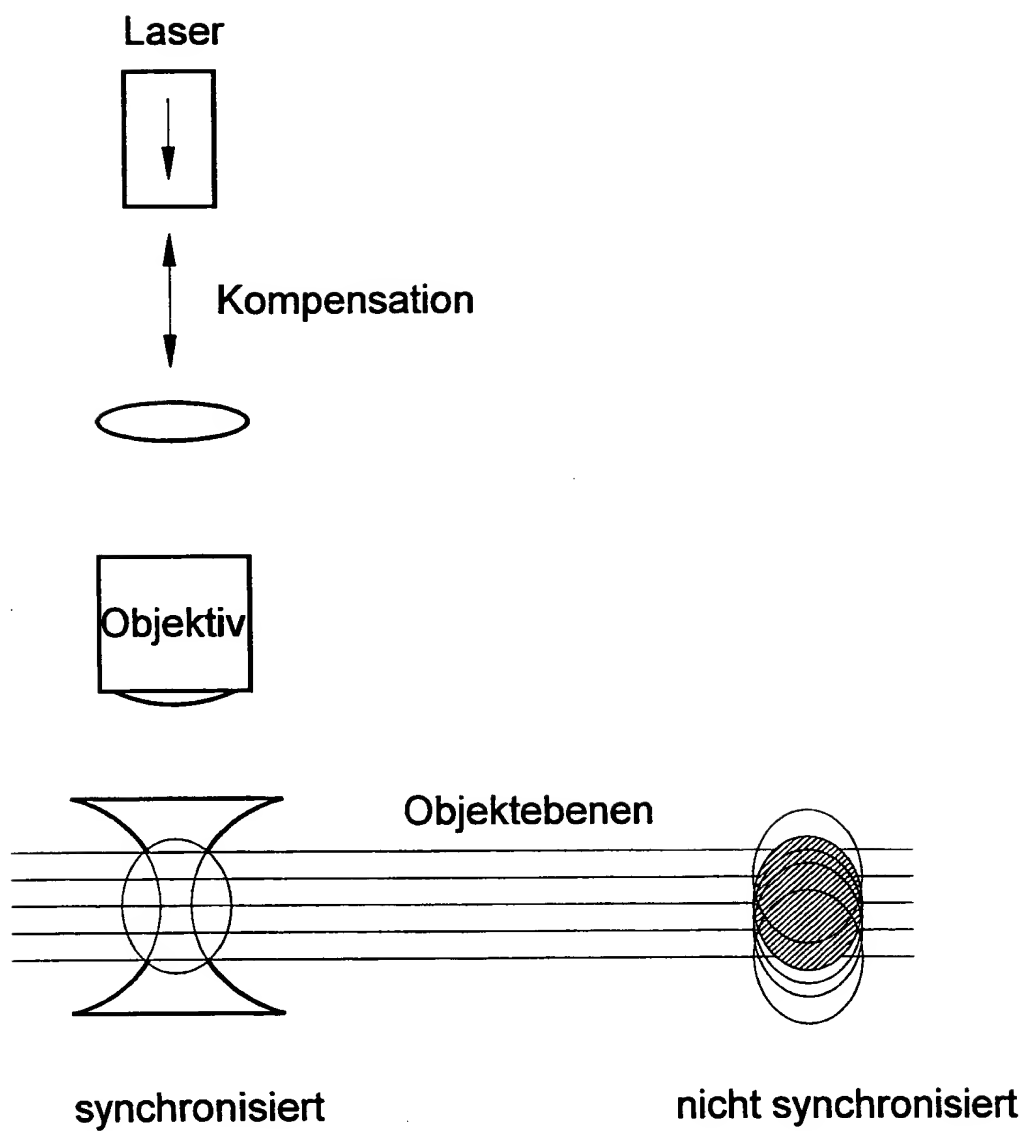


Fig.1



2

3

4

5

6

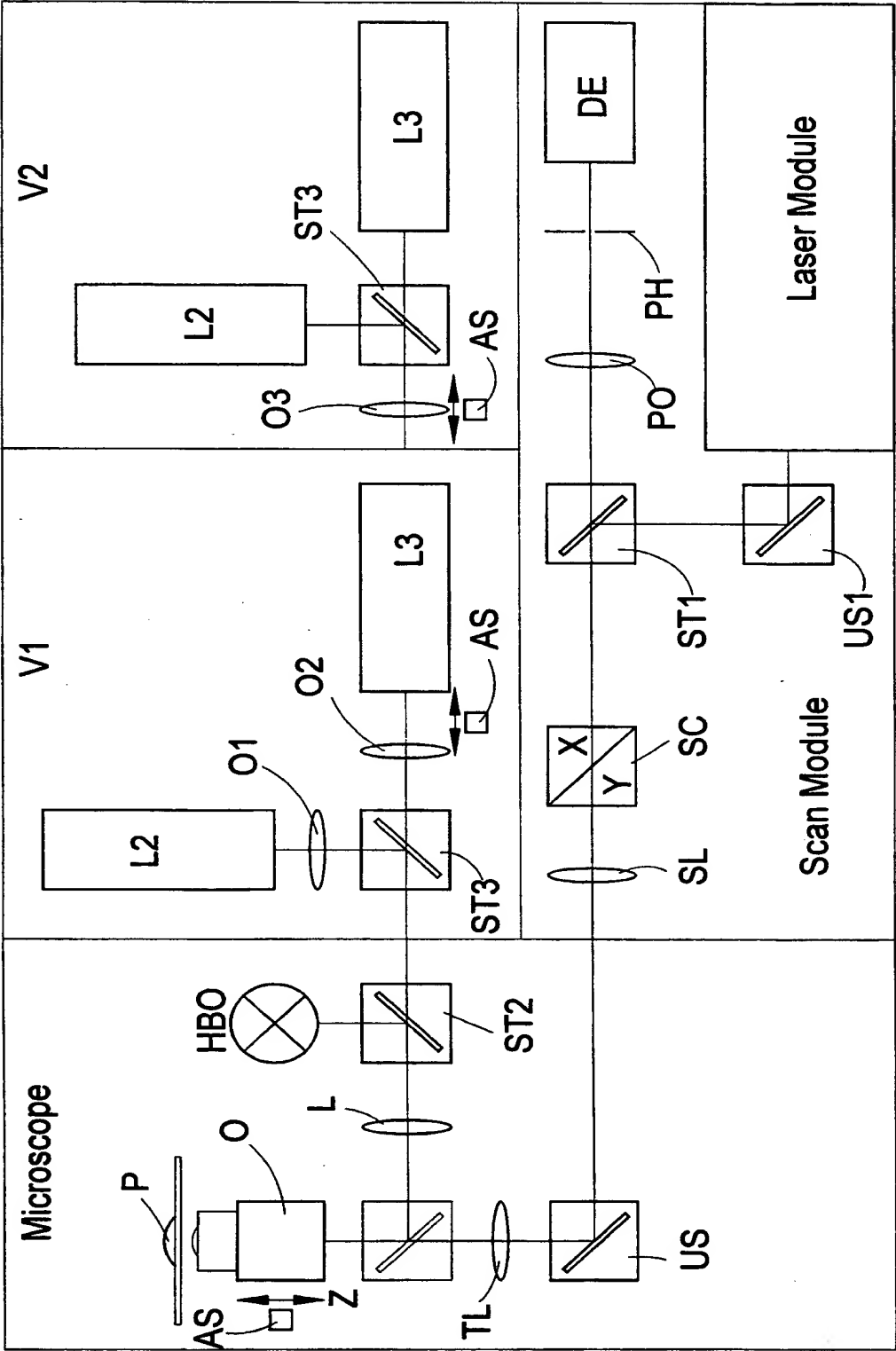


Fig.2



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/10808

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G02B21/00 G01N15/14 G02B21/06 G02B21/32 C12M1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G02B G01N H05H C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, INSPEC, IBM-TDB

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X<br>A     | WO 94 16543 A (SCHUETZE RAIMUND)<br>21 July 1994 (1994-07-21)<br>page 1, line 11 - line 21<br>page 2, line 21 -page 3, line 30<br>page 5, line 36 -page 6, line 37<br>page 8, line 33 -page 9, line 24<br>page 12, line 1 -page 14, line 32<br>abstract; figure 1<br><br>-----<br><br>-/-- | 1,2,4,6<br><br>3      |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 January 2001

Date of mailing of the international search report

09/02/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Narganes-Quijano, F

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/10808

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X          | FAELLMAN E ET AL: "DESIGN FOR FULLY STEERABLE DUAL-TRAP OPTICAL TWEEZERS" APPLIED OPTICS,US,OPTICAL SOCIETY OF AMERICA,WASHINGTON, vol. 36, no. 10, 1 April 1997 (1997-04-01), pages 2107-2113, XP000690365 ISSN: 0003-6935  | 1,2,5,6               |
| A          | page 2107, column 1, paragraph 1<br>page 2110, column 1, paragraph 5 -page 2112, column 2, paragraph 2<br>abstract; figures 1-3  | 3,4                   |
| X          | EP 0 486 732 A (HATFIELD POLYTECHNIC) 27 May 1992 (1992-05-27)<br>page 2, line 1-26<br>page 3, line 21-26<br>page 4, line 41-44<br>abstract; figures 1-4   | 1-3                   |
| X          | US 4 934 799 A (CHU MOO J) 19 June 1990 (1990-06-19)   | 1,2                   |
| A          | column 2, line 48 -column 4, line 2<br>abstract; figure 1  | 3                     |
| X          | US 4 289 378 A (REMY ERNST ET AL) 15 September 1981 (1981-09-15)   | 1,2,5,6               |
| A          | column 3, line 50 -column 5, line 21<br>claim 3<br>abstract; figures 1-3   | 3,4                   |
| X          | EP 0 092 090 A (ZEISS CARL FA) 26 October 1983 (1983-10-26)  | 1,2                   |
| A          | page 3, line 22 -page 4, line 17<br>abstract; figure 1   | 3                     |
| A          | DE 198 01 139 A (UHL RAINER DR) 15 July 1999 (1999-07-15)<br>column 1, line 3-37<br>column 2, line 45-66<br>abstract; figures 1-3  | 1,6                   |
| A          | HOYER C ET AL: "Laser manipulation and UV induced single molecule reactions of individual DNA molecules" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, vol. 52, no. 2, 10 December 1996 (1996-12-10), pages 65-73, XP004095273 ISSN: 0168-1656<br>cited in the application<br>page 67, column 2, paragraph 2<br>abstract; figure 3 | 1,6                   |



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/10808

| Patent document<br>cited in search report |   | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9416543                                | A | 21-07-1994          | DE 4300698 A               | 14-07-1994          |
|   |   |                     | AT 159404 T                | 15-11-1997          |
|   |   |                     | AU 671900 B                | 12-09-1996          |
|   |   |                     | AU 5883194 A               | 15-08-1994          |
|   |   |                     | BR 9405806 A               | 19-12-1995          |
|   |   |                     | CA 2153167 A               | 21-07-1994          |
|   |   |                     | DE 59404347 D              | 20-11-1997          |
|   |   |                     | DK 679325 T                | 08-12-1997          |
|   |   |                     | EP 0679325 A               | 02-11-1995          |
|   |   |                     | ES 2110731 T               | 16-02-1998          |
|   |   |                     | JP 8505955 T               | 25-06-1996          |
|   |   |                     | RU 2120614 C               | 20-10-1998          |
|   |   |                     | SG 46367 A                 | 20-02-1998          |
|   |   |                     | US 5689109 A               | 18-11-1997          |
| EP 0486732                                | A | 27-05-1992          | GB 2231681 A               | 21-11-1990          |
|   |   |                     | US 5225929 A               | 06-07-1993          |
| US 4934799                                | A | 19-06-1990          | KR 9002716 B               | 23-04-1990          |
|   |   |                     | JP 2090119 A               | 29-03-1990          |
| US 4289378                                | A | 15-09-1981          | NONE                       |                     |
| EP 0092090                                | A | 26-10-1983          | DE 3214268 A               | 20-10-1983          |
|   |   |                     | AT 17052 T                 | 15-01-1986          |
|   |   |                     | DE 3361531 D               | 30-01-1986          |
|   |   |                     | JP 59010922 A              | 20-01-1984          |
|   |   |                     | US 4515447 A               | 07-05-1985          |
| DE 19801139                               | A | 15-07-1999          | US 6088097 A               | 11-07-2000          |



v

v

v

v

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/10808

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G02B21/00 G01N15/14 G02B21/06 G02B21/32 C12M1/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G02B G01N H05H C12M

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, INSPEC, IBM-TDB

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| X<br>A     | WO 94 16543 A (SCHUETZE RAIMUND)<br>21. Juli 1994 (1994-07-21)<br>Seite 1, Zeile 11 - Zeile 21<br>Seite 2, Zeile 21 - Seite 3, Zeile 30<br>Seite 5, Zeile 36 - Seite 6, Zeile 37<br>Seite 8, Zeile 33 - Seite 9, Zeile 24<br>Seite 12, Zeile 1 - Seite 14, Zeile 32<br>Zusammenfassung; Abbildung 1<br>---<br>-/-- | 1,2,4,6<br><br>3   |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

31. Januar 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/02/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Narganes-Quijano, F

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X          | FAELLMAN E ET AL: "DESIGN FOR FULLY STEERABLE DUAL-TRAP OPTICAL TWEEZERS" APPLIED OPTICS,US,OPTICAL SOCIETY OF AMERICA,WASHINGTON, Bd. 36, Nr. 10, 1. April 1997 (1997-04-01), Seiten 2107-2113, XP000690365 ISSN: 0003-6935  | 1,2,5,6            |
| A          | Seite 2107, Spalte 1, Absatz 1<br>Seite 2110, Spalte 1, Absatz 5 -Seite 2112, Spalte 2, Absatz 2<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1-3  | 3,4                |
| X          | EP 0 486 732 A (HATFIELD POLYTECHNIC) 27. Mai 1992 (1992-05-27)<br>Seite 2, Zeile 1-26<br>Seite 3, Zeile 21-26<br>Seite 4, Zeile 41-44<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1-4  | 1-3                |
| X          | US 4 934 799 A (CHU MOO J) 19. Juni 1990 (1990-06-19)   | 1,2                |
| A          | Spalte 2, Zeile 48 -Spalte 4, Zeile 2<br>Zusammenfassung; Abbildung 1   | 3                  |
| X          | US 4 289 378 A (REMY ERNST ET AL) 15. September 1981 (1981-09-15)   | 1,2,5,6            |
| A          | Spalte 3, Zeile 50 -Spalte 5, Zeile 21<br>Anspruch 3<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1-3  | 3,4                |
| X          | EP 0 092 090 A (ZEISS CARL FA) 26. Oktober 1983 (1983-10-26)  | 1,2                |
| A          | Seite 3, Zeile 22 -Seite 4, Zeile 17<br>Zusammenfassung; Abbildung 1  | 3                  |
| A          | DE 198 01 139 A (UHL RAINER DR) 15. Juli 1999 (1999-07-15)<br>Spalte 1, Zeile 3-37<br>Spalte 2, Zeile 45-66<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1-3   | 1,6                |
| A          | HOYER C ET AL: "Laser manipulation and UV induced single molecule reactions of individual DNA molecules" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, Bd. 52, Nr. 2, 10. Dezember 1996 (1996-12-10), Seiten 65-73, XP004095273 ISSN: 0168-1656<br>in der Anmeldung erwähnt<br>Seite 67, Spalte 2, Absatz 2<br>Zusammenfassung; Abbildung 3 | 1,6                |

# INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/10808

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie  | Datum d r<br>V r ö f f e n t l i c h u n g   |
|--|-------------------------------|--|--|
| WO 9416543 A                                       | 21-07-1994                    | DE 4300698 A<br>AT 159404 T<br>AU 671900 B<br>AU 5883194 A<br>BR 9405806 A<br>CA 2153167 A<br>DE 59404347 D<br>DK 679325 T<br>EP 0679325 A<br>ES 2110731 T<br>JP 8505955 T<br>RU 2120614 C<br>SG 46367 A<br>US 5689109 A | 14-07-1994<br>15-11-1997<br>12-09-1996<br>15-08-1994<br>19-12-1995<br>21-07-1994<br>20-11-1997<br>08-12-1997<br>02-11-1995<br>16-02-1998<br>25-06-1996<br>20-10-1998<br>20-02-1998<br>18-11-1997 |
| EP 0486732 A                                       | 27-05-1992                    | GB 2231681 A<br>US 5225929 A   | 21-11-1990<br>06-07-1993   |
| US 4934799 A                                       | 19-06-1990                    | KR 9002716 B<br>JP 2090119 A   | 23-04-1990<br>29-03-1990   |
| US 4289378 A                                       | 15-09-1981                    | KEINE  |  |
| EP 0092090 A                                       | 26-10-1983                    | DE 3214268 A<br>AT 17052 T<br>DE 3361531 D<br>JP 59010922 A<br>US 4515447 A  | 20-10-1983<br>15-01-1986<br>30-01-1986<br>20-01-1984<br>07-05-1985   |
| DE 19801139 A                                      | 15-07-1999                    | US 6088097 A   | 11-07-2000   |



2011

2011

2011

# PCT

## ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

|   |             |
|---|-------------|
| Vom Anmeldeamt auszufüllen  |             |
| PCT/EP 00 / 10808   |             |
| Internationales Aktenzeichen  |             |
| (02.11.00)  | 02 NOV 2000 |
| Internationales Anmeldedatum  |             |
| EUROPEAN PATENT OFFICE<br>PCT INTERNATIONAL APPLICATION                                 |             |
| Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"                                |             |
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)<br>(max. 12 Zeichen) 7403 PCT |             |

**Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG** "Anordnung zur Einkopplung einer optischen Pinzette und/oder eines Bearbeitungsstrahles in ein Mikroskop"

**Feld Nr. II ANMELDER**

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Carl Zeiss Jena GmbH  
Carl-Zeiss-Promenade 10

07745 Jena  
DE

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:  
(03641) 64-2400

Telefaxnr.:  
(03641) 64-2469

Fernschreibnr.:  
331545

Staatsangehörigkeit (Staat):  
DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):  
DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: ☐ alle Bestimmungsstaaten ☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

**Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER**

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

WENDENBURG, Ronald  
Ibrahimstr. 37

07745 Jena  
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):  
DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):  
DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: ☐ alle Bestimmungsstaaten ☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

**Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT**

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als: ☐ Anwalt ☒ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Carl Zeiss Jena GmbH  
Carl-Zeiss-Promenade 10

07745 Jena  
DE

Telefonnr.:  
(03641) 64-2400

Telefaxnr.:  
(03641) 64-2469

Fernschreibnr.:  
331545

☐ Zustellanschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.





## Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

*Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.*

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

HOFFMANN, Anja  
Kronfeldstr. 21

07745 Jena  
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

GREULICH, Karl Otto  
Max-Steenbeck-Str. 26

07745 Jena  
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

MONAJEMBASHI, Shamci  
Fritz-Frey-Str. 2

69121 Heidelberg  
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

IR

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

UHL, Volker  
Erlaufstr. 37/1

2344 Maria Enzersdorf  
AT

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

AT

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.



**Zusatzfeld** Wird dieses Zusatzfeld nicht benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.

1. Wenn der Platz in einem Feld nicht für alle Angaben ausreicht: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. ..." [Nummer des Feldes angeben] und machen die Angaben entsprechend der in dem Feld, in dem der Platz nicht ausreicht, vorgeschriebenen Art und Weise, insbesondere:

- (i) Wenn mehr als zwei Anmelder und/oder Erfinder vorhanden sind und kein "Fortsetzungsblatt" zur Verfügung steht: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. III" und machen für jede weitere Person die in Feld Nr. III vorgeschriebenen Angaben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.
  - (ii) Wenn in Feld Nr. II oder III die Angabe "die im Zusatzfeld angegebenen Staaten" angekreuzt ist: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. II", "Fortsetzung von Feld Nr. III" bzw. "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" und geben den Namen des Anmelders oder die Namen der Anmelder an und neben jedem Namen den Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent), für die die bezeichnete Person Anmelder ist.
  - (iii) Wenn der in Feld Nr. II oder III genannte Erfinder oder Erfinder/Anmelder nicht für alle Bestimmungsstaaten oder für die Vereinigten Staaten von Amerika als Erfinder benannt ist: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. II", "Fortsetzung von Feld Nr. III" bzw. "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" und geben den Namen des Erfinders oder die Namen der Erfinder an und neben jedem Namen den Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent), für die die bezeichnete Person Erfinder ist.
  - (iv) Wenn zusätzlich zu dem Anwalt oder den Anwälten, die in Feld Nr. IV angegeben sind, weitere Anwälte bestellt sind: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. IV" und machen für jeden weiteren Anwalt die entsprechenden, in Feld Nr. IV vorgeschriebenen Angaben.
  - (v) Wenn in Feld Nr. V bei einem Staat (oder bei OAPI) die Angabe "Zusatzpatent" oder "Zusatzzertifikat," oder wenn in Feld Nr. V bei den Vereinigten Staaten von Amerika die Angabe "Fortsetzung" oder "Teilfortsetzung" hinzugefügt wird: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. V" und geben den Namen des betreffenden Staats (oder OAPI) an und nach dem Namen jedes solchen Staats (oder OAPI) das Aktenzeichen des Hauptschutzrechts oder der Hauptschutzrechtsanmeldung und das Datum der Erteilung des Hauptschutzrechts oder der Einreichung der Hauptschutzrechtsanmeldung.
  - (vi) Wenn in Feld Nr. VI die Priorität von mehr als drei früheren Anmeldungen beansprucht wird: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. VI" und machen für jede weitere frühere Anmeldung die entsprechenden, in Feld Nr. VI vorgeschriebenen Angaben.
  - (vii) Wenn in Feld Nr. VI die frühere Anmeldung eine ARIPO Anmeldung ist: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. VI" und geben, unter Angabe der Nummer der Zeile, in der die die frühere Anmeldung betreffenden Angaben gemacht sind, mindestens einen Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums oder ein Mitglied der Welthandelsorganisation (WTO) (das nicht Mitgliedstaat der Verbandsübereinkunft ist) an, und für den/das die frühere Anmeldung erfolgte.
2. Wenn, im Hinblick auf die Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen in Feld Nr. V, der Anmelder Staaten von dieser Erklärung ausnehmen möchte: In diesem Fall schreiben Sie "Bestimmung(en), die von der Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen ausgenommen ist(sind)" und geben den Namen oder den Zweibuchstaben-Code jedes so ausgeschlossenen Staates an.
3. Wenn der Anmelder für irgendein Bestimmungsamt die Vorteile nationaler Vorschriften betreffend unschädliche Offenbarung oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit in Anspruch nimmt: In diesem Fall schreiben Sie "Erklärung betreffend unschädliche Offenbarung oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit" und geben im folgenden die entsprechende Erklärung ab.

Feld Nr. VIII

Kontrollliste Punkt 3

Die Unterschriften der Erfinder Ronald WENDENBURG, Anja HOFFMANN, Karl Otto GREULICH, Shamci MONAJEMBASHI und Volker UHL werden nachgereicht. Die Erfinder waren zum Zeitpunkt der Anmeldung nicht erreichbar.



**Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN**

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

**Regionales Patent**

- ☐ AP ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ EA Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidshan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ EP Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist **TR TÜRKEI**
- ☐ OA OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien                          | <input type="checkbox"/> LS Lesotho   |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien                          | <input type="checkbox"/> LT Litauen   |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich                        | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg                                       |
| <input type="checkbox"/> AU Australien                        | <input type="checkbox"/> LV Lettland  |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidshan                      | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau                                 |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina               | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar                                      |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados                          | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien                         | <input type="checkbox"/> MN Mongolei  |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien                         | <input type="checkbox"/> MW Malawi  |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus                           | <input type="checkbox"/> MX Mexiko  |
| <input type="checkbox"/> CA Kanada                            | <input type="checkbox"/> NO Norwegen  |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein  | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland                                      |
| <input type="checkbox"/> CN China                             | <input type="checkbox"/> PL Polen   |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba                              | <input type="checkbox"/> PT Portugal  |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik             | <input type="checkbox"/> RO Rumänien  |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland                       | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation                            |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark                          | <input type="checkbox"/> SD Sudan   |
| <input type="checkbox"/> EE Estland                           | <input type="checkbox"/> SE Schweden  |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien                           | <input type="checkbox"/> SG Singapur  |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland                          | <input type="checkbox"/> SI Slowenien                                       |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich            | <input type="checkbox"/> SK Slowakei  |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien                          | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone                                    |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana                             | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan                                   |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia                            | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan                                    |
| <input type="checkbox"/> GW Guinea-Bissau                     | <input type="checkbox"/> TR Türkei  |
| <input type="checkbox"/> HR Kroatien                          | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago                             |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn                            | <input type="checkbox"/> UA Ukraine   |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien                        | <input type="checkbox"/> UG Uganda  |
| <input type="checkbox"/> IL Israel                            | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika       |
| <input type="checkbox"/> IS Island                            |   |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan                  |   |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia                             | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan                                      |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan                       | <input type="checkbox"/> VN Vietnam   |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien                                     |
|   | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe  |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea                    |   |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan                        |   |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia                       |   |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka                         |   |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia                           |   |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)



| Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH <input type="checkbox"/> Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben. |  |                                 |  |   |
|---|--|---------------------------------|--|---|
| Anmeldedatum<br>der früheren Anmeldung<br>(Tag/Monat/Jahr)  | Aktenzeichen<br>der früheren Anmeldung | Ist die frühere Anmeldung eine: |  |   |
|   |  | ationale Anmeldung:<br>Staat    | regionale Anmeldung:<br>regionales Amt | internationale Anmeldung:<br>Anmeldeamt |
| Zeile (1)<br>10.11.1999<br>(10. November 1999)  | 199 54 933.8                           | DE                              |  |   |
| Zeile (2)   |  |                                 |  |   |
| Zeile (3)   |  |                                 |  |   |

☐ Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)

\* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.

#### Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

|   |  |
|---|--|
| Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA)<br>(falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden) | Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):<br>Datum (Tag/Monat/Jahr)      Aktenzeichen      Staat (oder regionales Amt) |
| ISA / EP  |  |

#### Feld Nr. VIII KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE

|  |   |
|--|---|
| Diese internationale Anmeldung enthält die folgende Anzahl von Blättern: | Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:                                  |
| Antrag : 5   | 1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung   |
| Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil) : 7                             | 2. <input type="checkbox"/> Gesonderte unterzeichnete Vollmacht   |
| Ansprüche : 1  | 3. <input checked="" type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden): 3 2 8 9 4     |
| Zusammenfassung : 1  | 4. <input checked="" type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift                                   |
| Zeichnungen : 2  | 5. <input checked="" type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer gekennzeichnet: |
| Sequenzprotokollteil der Beschreibung :                                  | 6. <input type="checkbox"/> Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:                        |
| Blattzahl insgesamt : 18   | 7. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material     |
|  | 8. <input type="checkbox"/> Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerlesbarer Form            |
|  | 9. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflisten): Verrechnungsscheck                               |

Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):

Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wird:

#### Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

|  |   |   |   |
|--|---|---|---|
| Carl Zeiss Jena GmbH<br><i>Volker Ratz</i><br>Dipl.-Phys. Holger Harpe<br>Allg. Vollmacht<br>32894 | <i>Ronald Wendeneuro</i><br>Ronald WENDENEURO<br>(Erfinder)     | <i>Anja Hoffmann</i><br>Anja HOFFMANN<br>(Erfinderin) | <i>Karl Otto Greulich</i><br>Karl Otto GREULICH<br>(Erfinder) |
|  | <i>Shamir Monajembashi</i><br>Shamir MONAJEMBASHI<br>(Erfinder) | <i>Volker Uhl</i><br>Volker UHL<br>(Erfinder)         |   |

Vom Anmeldeamt auszufüllen

|  |   |
|--|---|
| 1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:  | 2. Zeichnungen<br><input type="checkbox"/> eingegangen:<br><br><input type="checkbox"/> nicht eingegangen:        |
| 3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung: |   |
| 4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:   |   |
| 5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /   | 6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben |

Vom Internationalen Büro auszufüllen

|  |
|--|
| Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro: |
|--|





**Titel:**

Anordnung zur Einkopplung einer optischen Pinzette und/oder eines Bearbeitungsstrahles in ein Mikroskop

Die Erfindung erlaubt die räumliche Fixierung von mikroskopischen Objekten im Laser Scanning Mikroskop, auch während Verschiebung der Objekzebene, zum Beispiel bei der Bildaufnahme. Somit können auch sich bewegende Objekte scharf abgebildet werden.

**Hintergrund der Erfindung**

Für eine Reihe von biologischen Arbeitstechniken hat sich die optische Pinzette als interessantes Arbeitswerkzeug erwiesen. Die Kombination von Laser Scanning Mikroskopen mit Lasermikrotechniken läßt eine Erweiterung der experimentellen Möglichkeiten erwarten.

LSM-Aufnahmen sich bewegender Objekte, vor allem im Inneren ungeöffneter Zellen, ergeben oft nicht zufriedenstellende Bilder, da sich viele subzelluläre Strukturen während der Scanzeit bewegen. Die optische Pinzette läßt sich hier ideal zur schonenden (Vital-) Fixierung einsetzen. Weiterhin ist mit der optischen Pinzette eine räumlich definierte Verschiebung von fixierten Objekten möglich. Anwendungsbeispiele für den Einsatz einer kompensierten optischen Pinzette im Laser Scanning Mikroskop sind die Untersuchung von Organellen, zum Beispiel Chloroplasten, oder das Festhalten von durch Motorproteine bewegten Objekten. Im letzten Fall sind unter geeigneten Bedingungen sogar Kraftmessungen möglich. Grundsätzlich können bewegliche Objekte, beispielsweise Partikel in Suspension oder bestimmte Organellen, ohne Fixierung durch eine kompensierte optische Pinzette, nicht scharf abgebildet werden.

Eine durch das Objektiv eingekoppelte optische Pinzette hat ihren Fokus in der Objekzebene. Wird durch den dreidimensionalen Bildaufnahmeprozess ("Scannen") die Objekzebene parallel verschoben, so verschiebt sich der Fokus der optischen Pinzette mit. Dies führt dazu, daß Objekte, die durch die optische Pinzette gehalten werden, ebenfalls verschoben werden. Dies ist jedoch während der Bildaufnahme unerwünscht. Deshalb muß die



Verschiebung der Objektebene durch eine geeignete Einrichtung im Strahlengang der optischen Pinzette kompensiert werden.

Die Erfindung ist immer dann bei Laser Scanning Mikroskopen verschiedener Hersteller notwendig, wenn die optische Pinzette durch das Objektiv eingekoppelt wird und die dritte Dimension bei der Bildaufnahme durch Verschieben des Objektivs oder des Objektts oder einer anderen Methode, die den Fokus der optischen Pinzette relativ zur Probe verschiebt, erschlossen wird.

Die Einkopplung der optischen Pinzette in ein inverses Mikroskop über ein zweites hochaperturiges Objektiv, das die optische Pinzette von der anderen Seite der Probe eingekoppelt (K. Visscher, G. J. Brakenhoff: Single Beam Optical Trapping Integrated in a Confocal Microscope for Biological Applications. Cytometry 12:486-491 (1991)), macht eine kompensierte Bewegung der optischen Pinzette zwar überflüssig, dafür muß sich die Probe aber zwischen zwei Deckgläsern befinden und darf eine gewisse Dicke nicht überschreiten. Weiterhin schränkt diese Art der Einkopplung konventionelle mikroskopische Anwendungen ein, da das Objektiv für die optische Pinzette an der Stelle plaziert ist, an der sich im inversen Mikroskop der Durchlichtstrahlengang befindet. Darüber hinaus ist die Probe von oben nicht mehr uneingeschränkt frei zugänglich, was zum Beispiel Anwendungen mit Mikroinjektions- oder Temperiereinrichtungen sehr erschwert, wenn nicht sogar unmöglich macht. Letzteres gilt auch für Aufbauten, bei denen das optische Fixieren von Partikeln durch mit Mikrolinsen versehenen Glasfasern erfolgt, die direkt auf die Probe geführt werden. Hinzu kommen Probleme mit der Sterilität der Probe, da die Glasfasern in dickere Flüssigkeitsschichten eintauchen müssen, wenn Partikel an der Unterseite der Flüssigkeit fixiert werden sollen.

### Beschreibung

Abbildung 1 zeigt eine schematische Darstellung der Wirkung der Erfindung, Abbildung 2 die Anwendung in einem Mikroskop wie einem Laser-Scanning - Mikroskop.

Im für die Erfindung relevanten Aufbau wird die optische Pinzette durch das Mikroskopobjektiv in die Objektebene geführt. Sie ist so justiert, daß sich



in der Objektebene befindliche mikroskopische Partikel gehalten werden, das heißt, der Fokus der optischen Pinzette liegt in der Objektebene. Bei der dreidimensionalen Bildaufnahme durch ein Laser Scanning Mikroskop muß die Objektebene jedoch parallel verschoben werden, um die aus der Objektebene heraus ragende dritte Dimension zu erschließen. Dadurch verschiebt sich auch der Fokus der optischen Pinzette, was zu einer unerwünschten Verschiebung der fixierten Partikel führt. Ohne Kompensation dieser Verschiebung können dreidimensionale Objekte, die durch die optische Pinzette gehalten werden, nicht dreidimensional aufgelöst aufgenommen werden. Eine Kompensation der Verschiebung der Objektebene, im Folgenden z-Kompensation genannt, besteht aus variablen optischen Elementen, die in der Strahlengang der optischen Pinzette eingefügt werden und die die Bewegung der Objektebene kompensieren. Die z-Kompensation bewirkt eine zur Bewegung der Objektebene simultan ablaufende kompensierende Bewegung der optischen Pinzette, so daß die Position des fixierten Objekts in der Probe erhalten bleibt.

Realisiert wird die Kompensation über ein elektromechanisch verschiebbares optisches Element im Einkoppelsystem der optischen Pinzette. Die exakte Position der Objektebene wird der Steuerelektronik des Laser Scanning Mikroskops während des Bildaufnahmevorgangs entnommen. Entsprechend wird das verschiebbare optische Element im Einkoppelsystem der optischen Pinzette rechnergesteuert verfahren, so daß die Position des fixierten Objekts relativ zur Probe erhalten bleibt. Es ist prinzipiell nicht notwendig, die Position der Objektebene der Steuerelektronik des Laser Scanning Mikroskops zu entnehmen, da die Position der relevanten optischen Elemente auch elektromechanisch oder optisch detektiert werden kann. Dies ist allerdings mit einem größeren Aufwand verbunden.

Wenn der Strahlengang für die optische Pinzette vom Laser zum Mikroskop über Lichtleiter erfolgt, kann die z-Kompensation mit der mikroskopseitigen Halterung des Lichtleiters kombiniert werden. Es entsteht dann eine kompakte Einheit mit einem Minimum an optischen Elementen.

Es besteht auch die Möglichkeit, die z-Kompensation manuell vorzunehmen. Dazu wird das zu untersuchende Objekt in verschiedenen x-y-Schnitten abgetastet. Zwischen den Schnitten wird die Objektebene durch das Laser



Scanning Mikroskop verschoben. Vor der Aufnahme des nächsten Schnitts wird die Position des Fokus der optischen Pinzette durch manuelles Verschieben des im Strahlengang der optischen Pinzette befindlichen zusätzlichen optischen Elements wieder an den Ausgangspunkt gebracht. Dieser Vorgang wird für jeden x-y-Schnitt wiederholt. Durch die oben beschriebene rechnergesteuerte elektromechanische Verschiebung des Kompensationselements wird jedoch während der dreidimensionalen Bildaufnahme Zeit gespart, was bei kurzlebigen Präparaten von entscheidender Bedeutung sein kann. Es soll jedoch die z-Kompensation an sich patentiert werden, unabhängig von ihrer technischen Ausführung.

Sollen mehrere in Flüssigkeit bewegliche Objekte untersucht werden, müssen diese alle mit einer optischen Pinzette fixiert werden. Die hier beschriebene z-Kompensation erlaubt auch das Einkoppeln einer sogenannten "Multitrap", einer optischen Pinzette, bei der ein oder mehrere Laserstrahlen zur Fixierung auf mehrere Objekte gelenkt werden. Dies kann auch dadurch geschehen, daß mit Hilfe eines Scannerspiegels ein Strahl abwechselnd in hoher Frequenz auf mehrere Objekte so gelenkt wird, daß diese fixiert bleiben, auch wenn der Laserstrahl nicht permanent das entsprechende Objekt bestrahlt.

Auf gleiche Weise wie die optische Pinzette kann auch ein Lasermikrostrahl kompensiert eingekoppelt werden (Ein Lasermikrostrahl ist ein kurz gepulster Laserstrahl, der in ein Mikroskop eingekoppelt wird, um Mikromaterialbearbeitung durchzuführen). Somit kann für die Einkopplung des Lasermikrostrahls die gleiche Optik wie für die optische Pinzette verwendet werden. Ein z-kompensierter Lasermikrostrahl erlaubt präzise Materialbearbeitung während der Bildaufnahme, zum Beispiel um die Licht-Materie-Wechselwirkung im Detail zu untersuchen.

Die Abbildung 2 zeigt einen mikroskopischen Strahlengang mit einer Probe P, einem Objektiv O und einer Tubuslinse TL.

Über einen Umlenkspiegel US wird über eine Scanlinse SL und einen x/y Scanner SC sowie einen Umlenkspiegel US1 und einen dichroitischen Strahlteiler ST1 ein Laserstrahl L1 eingekoppelt, der die Probe P in x/y Richtung abscannt.





Der Strahlfokus in der Probe wird hierbei durch Verschieben des Objektives O in Z-Richtung über eine Ansteuereinheit AS höhenverstellt, so daß die Probe an unterschiedlichen Z-Positionen abgescannt werden kann.

Die von der Probe kommende Strahlung gelangt auf umgekehrten Weg über den Stahlteiler ST1 auf eine Detektoreinheit, bestehend aus Pinholeoptik PO, Pinhole PH sowie Detektor DE.

Weiterhin ist über einen weiteren Stahlteiler ST2 und eine Linse L eine HBO - Beleuchtung einkoppelbar.

Über den Strahlteiler ST2 und einen weiteren Strahlteiler ST3 werden weiterhin in einer Variante V1 über entsprechende Korrektionsoptiken O1,O2 ein gepulster Laserstrahl L2 zum optischen Schneiden und ein weiterer Laserstrahl L3 als optische Pinzette ( Optical Tweezer) eingekoppelt.

Beispielsweise kann es sich zur Lichteinkopplung um eine indirekte Einkopplung über Lichtleiter handeln, denen Kollimationsoptiken nachgeordnet sind.

Durch Verschieben der Optiken oder der Lichtleiterenden entlang der optischen Achse ändert sich die Strahlfokusposition des jeweiligen Lasers in der Probe P. Die Korrektionsoptiken O1,O2 sind hierbei in der Variante V1 entlang der optischen Achse über die Ansteuereinheit AS verschiebbar angeordnet, wobei die Ansteuereinheit AS diese Verschiebebewegung mit der Verschiebebewegung des Objektives abstimmen kann.

Dies erfolgt durch eine zur Verschiebung des Objektives über errechnete oder vorher abgespeicherte Korrekturwerte abgestimmte gegenläufige Bewegung mindestens des Laserstrahles L3.

Zum einen wird erreicht, daß die Lage des Fokus innerhalb Probe in Z-Richtung definiert verändert werden kann.

Zum anderen kann ein mit der optischen Pinzette festgehaltenes Objekt vorteilhaft bei Verschiebungen des Objektivs in Z-Richtung immer an derselben Stelle in der Probe verbleiben.

Neben der Bewegung der Optik O2 für den Laser L3 kann auch die Optik O1 für den Schneidelaser L2 entsprechend bewegt werden und dadurch die Lage des Schnittes beliebig und auch von der Lage des Lasers L3 entkoppelt gewählt werden.

In der anschließend dargestellten Variante V2 ist für die Laser L2, L3 eine gemeinsame verschiebliche Korrekturoptik O3 vorgesehen.



Auch hier kann durch zusätzlich in den Strahlengang des Lasers L2 einsetzbare unterschiedliche Optiken eine Entkopplung der Bewegung von L2 und L3 erreicht werden.

Weiterhin ist hier die Verwendung eines sogenannten Multibeam-Tweezers, d.h. einer Pinzette, bei der ein oder mehrere Laserstrahlen zum Festhalten von mehreren Objekten verwendet werden können, möglich.

Dies kann dadurch geschehen, daß der Laserstrahl L3 mit Hilfe eines Scannerspiegels in hoher Frequenz auf mehrere Objekte so gelenkt wird, daß diese gleichzeitig festgehalten werden können ( C.Hoyer, S.Monajembashi, K.O. Greulich: Laser Manipulation and UV induced single molecule reactions of individual DNA molecules; Journal of Biotechnology 52 (1996), 65-73)

#### Anwendungsbeispiele

Organellen können häufig nicht scharf abgebildet werden, da sie sich während der Bildaufnahme bewegen. Nur durch den Einsatz einer kompensierten optischen Pinzette, die die Fixierung der Organellen während der Bildaufnahme ermöglicht, sind scharfe, dreidimensionale Abbildungen möglich. So können Zellorganellen wie zum Beispiel Chloroplasten oder Mitochondrien in lebenden Zellen fixiert und scharf dreidimensional abgebildet werden. Organellen, die sich normalerweise nicht bewegen, wie sekretorische Vesikel oder der Graviperzeptionsapparat, können mit der optischen Pinzette aus der Ursprungsposition ausgelenkt werden und die Reaktion der Zelle darauf (Reorganisation) dreidimensional untersucht werden. Durch Auslenkung aus der Ruhelage kann auch die Cytoskelettdynamik in lebenden Zellen untersucht werden.

Sphäroiden können als in-vivo Modell für Gewebe mit einer z-kompensierten optischen Pinzette im Laser Scanning Mikroskop dreidimensional manipuliert und untersucht werden.

Mit Hilfe von Vitalfarbstoffen können lebende Zellen so angefärbt werden, daß sie mit Fluoreszenzmikroskopie abgebildet werden können. Mit einer in ein konfokales Laser Scanning Mikroskop integrierten z-kompensierten optischen Pinzette sind so Untersuchungen zur Chromosomenorganisation in



lebenden Zellen möglich. Ebenfalls sind mit dieser Anordnung dreidimensionale Abbildungen und Untersuchungen zum Teilungsprozeß an nichtadherenten Zellen möglich.



**Patentansprüche**

1.

Anordnung zur Einkopplung mindestens eines Strahles einer optischen Pinzette zum Einfangen von Teilchen und/ oder eines Bearbeitungsstrahles in einen mikroskopischen Strahlengang, vorzugsweise in einem Laser-Scanning- Mikroskop, wobei Mittel zur frei einstellbaren Veränderung der Lage des Strahlfokus der optischen Pinzette und / oder des Bearbeitungsstrahles bezüglich der Veränderung der Fokusposition des Mikroskopes vorgesehen sind. sind.

2.

Anordnung nach Anspruch 1, wobei zur Veränderung der Lage des Strahlfokus eine separate bewegliche Optik vorgesehen ist.

3.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei Strahlaustritt und / oder Beleuchtungsoptik der Optischen Pinzette und/ oder des Bearbeitungsstrahles in Richtung der optischen Achse verschiebbar sind.

4.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche , wobei die Veränderung ansteuerbar ist und eine Bewegung der optischen Pinzette und/ oder des Bearbeitungsstrahles in Gegenrichtung zur Bewegung des Mikroskopobjektives bewirkt.

5.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, mit einer definierten Ansteuerung der Verschiebung über vorgespeicherte oder errechnete Werte in Abhängigkeit von der Fokusposition.

6.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei mehrere optische Pinzetten und/ oder Bearbeitungsstrahlen vorgesehen , die einzeln und/ oder gemeinsam bezüglich ihrer Fokuslage einstellbar sind





## **Zusammenfassung**

Anordnung zur Einkopplung mindestens eines Strahles einer optischen Pinzette zum Einfangen von Teilchen und/ oder eines Bearbeitungsstrahles in einen mikroskopischen Strahlengang, vorzugsweise in einem Laser-Scanning- Mikroskop, wobei Mittel zur frei einstellbaren Veränderung der Lage des Strahlfokus der optischen Pinzette und / oder des Bearbeitungsstrahles bezüglich der Veränderung der Fokusposition des Mikroskopes vorgesehen sind. sind.



1/2

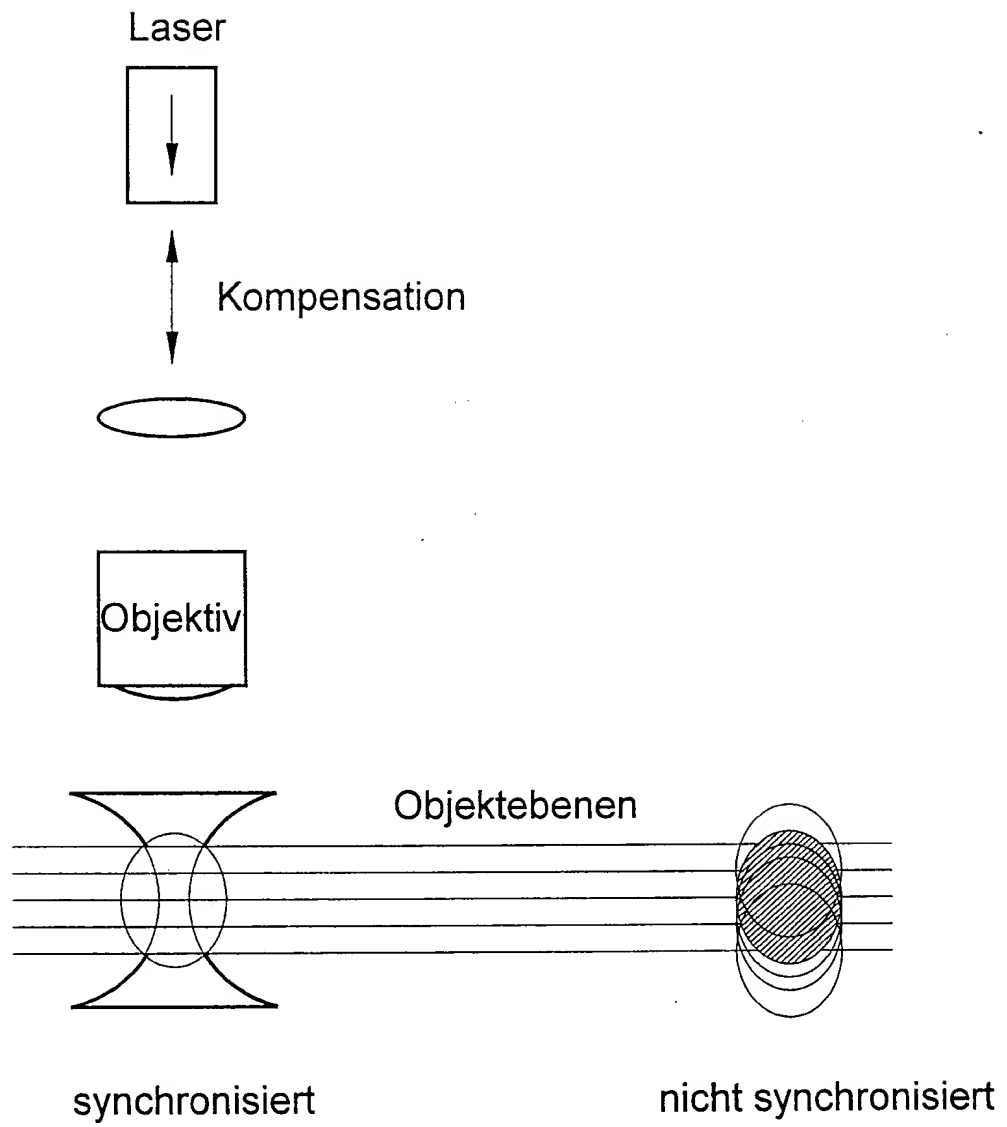


Fig.1



2/2

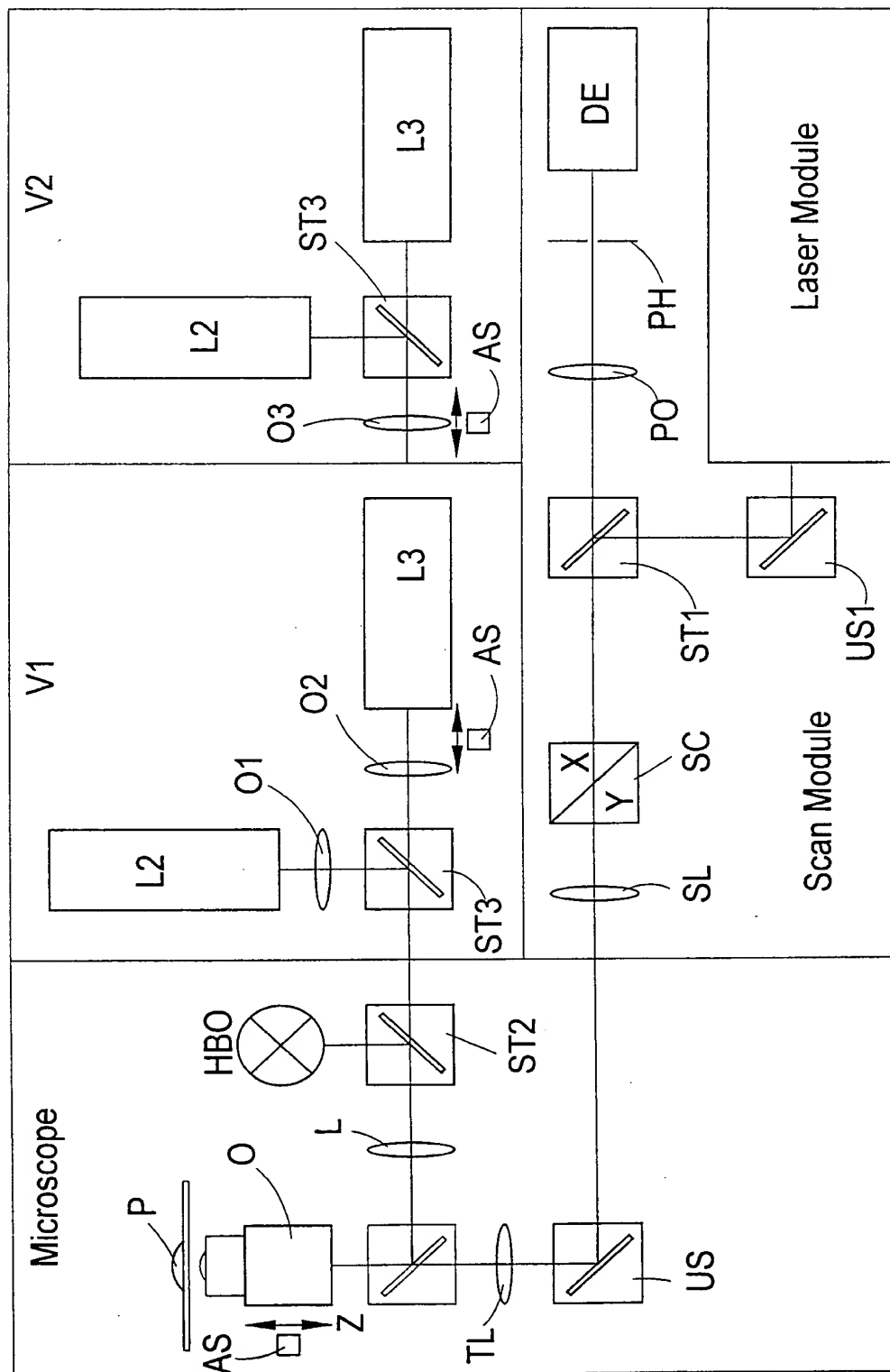


Fig.2



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

## PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES  
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS  
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PC1)

|  |
|--|
| An<br>CARL ZEISS JENA GMBH<br>Carl-Zeiss-Promenade 10<br>D-07745 Jena<br>GERMANY |
|--|

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| Absenddatum<br>(Tag/Monat/Jahr) | 09/02/2001 |
|---------------------------------|------------|

|  |  |
|--|--|
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts.<br>7403 PCT | <b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Punkte 1 und 4 unten              |
| Internationales Aktenzeichen<br>PCT/EP 00/10808      | Internationales Anmeldedatum<br>(Tag/Monat/Jahr)      02/11/2000 |
| Anmelder<br>CARL ZEISS JENA GMBH                     |  |

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.  
**Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:**  
 Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46);  
  
**Bis wann sind Änderungen einzureichen?**  
 Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.  
  
**Wo sind Änderungen einzureichen?**  
 Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genéve 20,  
 Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35  
  
 Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.
2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a übermittelt wird.
3. ☐ Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß
 

☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.  
☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.
4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:  
 Kurz nach Ablauf von **18 Monaten** seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90 bis bzw. 90.3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.  
 Innerhalb von **19 Monaten** seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.  
 Innerhalb von **20 Monaten** seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahlklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

|  |   |
|--|---|
| Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde<br>Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL-2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 po nl,<br>Fax: (+31-70) 340-3016 | Bevollmächtigter Bediensteter<br><br>Roger Thomas |
|--|---|





## ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

### HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

#### Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

#### Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten : dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

#### Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

#### In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen, die anderen Ansprüche nicht neu numeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

#### Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

##### Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19(1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.



f

ii

city

do

ee

2

4

## ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Anspruch anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:  
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Anspruch 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:  
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:  
"Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt." Oder "Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:  
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

### "Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigelegt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

### Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

### Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

|  |   |   |
|--|---|---|
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts<br><b>7403 PCT</b> | <b>WEITERES<br/>VORGEHEN</b>  | siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen<br>Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit<br>zutreffend, nachstehender Punkt 5 |
| Internationales Aktenzeichen<br><b>PCT/EP 00/10808</b>     | Internationales Anmeldedatum<br>(Tag/Monat/Jahr)<br><b>02/11/2000</b> | (Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)<br><b>10/11/1999</b>   |
| Anmelder<br><br><b>CARL ZEISS JENA GMBH</b>                |   |   |

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt Ihnen jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

#### 1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

#### 4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

#### 5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 2

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☒ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



Feld III

WORTLAUT DER ZUSAMMENFASSUNG (Fortsetzung von Punkt 5 auf Blatt 1)

Anordnung zur Einkopplung mindestens eines Strahles (L3) einer optischen Pinzet zum Einfangen von Teilchen und/oder eines Bearbeitungsstrahles (L2) in einen mikroskopischen Strahlengang, vorzugsweise in einem Laser-Scanning-Mikroskop (O, SC), wobei Mittel (AS) zur frei einstellbaren Veränderung der Lage des Strahlfokus der optischen Pinzette und/oder des Bearbeitungsstrahles bezüglich der Veränderung der Fokusposition des Mikroskopes vorgesehen sind.





## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G02B21/00 G01N15/14 G02B21/06 G02B21/32 C12M1/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G02B G01N H05H C12M

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, INSPEC, IBM-TDB

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| X          | WO 94 16543 A (SCHUETZE RAIMUND)<br>21. Juli 1994 (1994-07-21)   | 1,2,4,6            |
| A          | Seite 1, Zeile 11 - Zeile 21<br>Seite 2, Zeile 21 - Seite 3, Zeile 30<br>Seite 5, Zeile 36 - Seite 6, Zeile 37<br>Seite 8, Zeile 33 - Seite 9, Zeile 24<br>Seite 12, Zeile 1 - Seite 14, Zeile 32<br>Zusammenfassung; Abbildung 1<br>---<br>-/-- | 3                  |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

31. Januar 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/02/2001

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Narganes-Quijano, F



## C:(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X          | FAELLMAN E ET AL: "DESIGN FOR FULLY STEERABLE DUAL-TRAP OPTICAL TWEEZERS" APPLIED OPTICS,US,OPTICAL SOCIETY OF AMERICA,WASHINGTON, Bd. 36, Nr. 10, 1. April 1997 (1997-04-01), Seiten 2107-2113, XP000690365 ISSN: 0003-6935  | 1,2,5,6            |
| A          | Seite 2107, Spalte 1, Absatz 1<br>Seite 2110, Spalte 1, Absatz 5 -Seite 2112, Spalte 2, Absatz 2<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1-3  | 3,4                |
| X          | EP 0 486 732 A (HATFIELD POLYTECHNIC) 27. Mai 1992 (1992-05-27)<br>Seite 2, Zeile 1-26<br>Seite 3, Zeile 21-26<br>Seite 4, Zeile 41-44<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1-4  | 1-3                |
| X          | US 4 934 799 A (CHU MOO J) 19. Juni 1990 (1990-06-19)   | 1,2                |
| A          | Spalte 2, Zeile 48 -Spalte 4, Zeile 2<br>Zusammenfassung; Abbildung 1   | 3                  |
| X          | US 4 289 378 A (REMY ERNST ET AL) 15. September 1981 (1981-09-15)   | 1,2,5,6            |
| A          | Spalte 3, Zeile 50 -Spalte 5, Zeile 21<br>Anspruch 3<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1-3  | 3,4                |
| X          | EP 0 092 090 A (ZEISS CARL FA) 26. Oktober 1983 (1983-10-26)  | 1,2                |
| A          | Seite 3, Zeile 22 -Seite 4, Zeile 17<br>Zusammenfassung; Abbildung 1  | 3                  |
| A          | DE 198 01 139 A (UHL RAINER DR) 15. Juli 1999 (1999-07-15)<br>Spalte 1, Zeile 3-37<br>Spalte 2, Zeile 45-66<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1-3   | 1,6                |
| A          | HOYER C ET AL: "Laser manipulation and UV induced single molecule reactions of individual DNA molecules" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, Bd. 52, Nr. 2, 10. Dezember 1996 (1996-12-10), Seiten 65-73, XP004095273 ISSN: 0168-1656<br>in der Anmeldung erwähnt<br>Seite 67, Spalte 2, Absatz 2<br>Zusammenfassung; Abbildung 3 | 1,6                |



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/10808

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie  | Datum der<br>Veröffentlichung  |
|--|-------------------------------|--|--|
| WO 9416543 A                                       | 21-07-1994                    | DE 4300698 A<br>AT 159404 T<br>AU 671900 B<br>AU 5883194 A<br>BR 9405806 A<br>CA 2153167 A<br>DE 59404347 D<br>DK 679325 T<br>EP 0679325 A<br>ES 2110731 T<br>JP 8505955 T<br>RU 2120614 C<br>SG 46367 A<br>US 5689109 A | 14-07-1994<br>15-11-1997<br>12-09-1996<br>15-08-1994<br>19-12-1995<br>21-07-1994<br>20-11-1997<br>08-12-1997<br>02-11-1995<br>16-02-1998<br>25-06-1996<br>20-10-1998<br>20-02-1998<br>18-11-1997 |
| EP 0486732 A                                       | 27-05-1992                    | GB 2231681 A<br>US 5225929 A   | 21-11-1990<br>06-07-1993   |
| US 4934799 A                                       | 19-06-1990                    | KR 9002716 B<br>JP 2090119 A   | 23-04-1990<br>29-03-1990   |
| US 4289378 A                                       | 15-09-1981                    | KEINE  |  |
| EP 0092090 A                                       | 26-10-1983                    | DE 3214268 A<br>AT 17052 T<br>DE 3361531 D<br>JP 59010922 A<br>US 4515447 A  | 20-10-1983<br>15-01-1986<br>30-01-1986<br>20-01-1984<br>07-05-1985   |
| DE 19801139 A                                      | 15-07-1999                    | US 6088097 A   | 11-07-2000   |

